

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2003-521573

(P2003-521573A)

(43) 公表日 平成15年7月15日 (2003.7.15)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テグコード* (参考)
C 0 8 B 37/00		C 0 8 B 37/00	G 4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	B 4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/7024		A 6 1 K 31/7024	4 C 0 9 0
A 6 1 P 1/16		A 6 1 P 1/16	
3/00		3/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 32 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2001-556110(P2001-556110)
 (86) (22) 出願日 平成13年2月1日 (2001.2.1)
 (85) 翻訳文提出日 平成13年10月3日 (2001.10.3)
 (86) 国際出願番号 P C T / K R 0 1 / 0 0 1 3 9
 (87) 国際公開番号 W O 0 1 / 0 5 6 4 0 4
 (87) 国際公開日 平成13年8月9日 (2001.8.9)
 (31) 優先権主張番号 2 0 0 0 / 5 2 9 4
 (32) 優先日 平成12年2月3日 (2000.2.3)
 (33) 優先権主張国 韓国 (K R)
 (31) 優先権主張番号 2 0 0 0 / 8 3 8 5 3
 (32) 優先日 平成12年12月28日 (2000.12.28)
 (33) 優先権主張国 韓国 (K R)

(71) 出願人 ケービーピー コーポレーション リミテ
 ッド
 大韓民国 429-450 キョンギド シフン
 シ ジョンワンドンシファゴンドン3ガ
 101-1 ブロック ケーアイティーイー
 シーエイチ 3階 303
 (72) 発明者 ビョン ジェ ヒョン
 大韓民国 612-062 プサンクァンヨクシ
 ヘウンデグバンヨ2ドン 1291-1460
 ヒョンデバンヨ3チャアバート 101-502
 (74) 代理人 弁理士 杉村 純子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 低分子量ポリマンヌロネート

(57) 【要約】

本発明は、有機酸を用いてアルギネートの部分的加水分解を行い、次いでpHに依存した溶解性の差異を用いた分離方法をおこなうことにより、平均分子量が $10^3 \sim 10^5$ の低分子量ポリマンヌロネートを製造する方法を提供する。当該低分子量ポリマンヌロネートは、肥満症を抑制し、全体のコレステロール、トリグリセリド、リン酸脂質、及びLDLコレステロールの各レベルを低減させ、HDLコレステロールを増加させ、GOT及びGPT活性を減少させる等の機能を有する。低分子量ポリマンヌロネートを使用して、種々の機能性食品や健康助剤を製造することができる。

【特許請求の範囲】**【請求項1】**

高分子量アルギネートから低分子量ポリマンヌロネートを製造するにあたり次の工程、

- (1) 高分子量アルギネートに有機酸を添加して加熱し、
- (2) pHを2.5～3.5に調整し、
- (3) 製造されたポリマンヌロネートを回収する

工程を含む、高分子量アルギネートから低分子量ポリマンヌロネートを製造する方法。

【請求項2】

高分子量アルギネートは海藻から調製される、請求項1記載の方法。

【請求項3】

有機酸は、クエン酸、リンゴ酸、酢酸、乳酸、コハク酸、酒石酸及び酢酸からなる群より選ばれる、請求項1記載の方法。

【請求項4】

pHは2.8～3.0である、請求項1記載の方法。

【請求項5】

0.01～100重量%の低分子量ポリマンヌロネートを含む、肥満症を防ぎ、血清脂質を調整し、肝臓機能を高め、体内から重金属を排出する組成物。

【請求項6】

0.01～100重量%の低分子量ポリマンヌロネートを含む、血清脂質を調整し、高脂血症、肥満症及び糖尿病を防ぐことができる機能性食品。

【請求項7】

飲料性食品である、請求項6記載の機能性食品。

【請求項8】

固形食品である、請求項6記載の方法。

【請求項9】

0.01～100重量%の低分子量ポリマンヌロネートを含む、高血圧症、動脈硬化症、狭心症、心筋梗塞及び脳血栓症のような心臓性血管病、肥満症及び糖

尿病を防止し、処置する健康助剤。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

(背景技術)

(発明の技術分野)

本発明は、低分子量ポリマンヌロネートに関し、特に、高分子量アルギネートから分解により低分子量ポリマンヌロネートを精製する方法に関する。

【0002】

(従来技術)

高血圧症、動脈硬化症、狭心症、心筋梗塞及び脳血栓症のような処置が困難な多くの心臓血管病、並びに肥満症及び糖尿病の発生が増加しており、これは高脂肪、高タンパクの西洋型食事による過剰栄養、そして運動不足によるものである。近年これらの病気を予防し、処置することに大きな関心が注がれている。化学的に合成した製品の変わりに、天然物からの抽出物を補充した食養学的食品でこれ等の病気を予防及び／又は処置することが望ましく、これらは副作用のない安全な方法であって、ユーザーがかかる製品を食するのが不本意であることを低減するものであることが望ましい。

【0003】

このような傾向を反映して、繊維質食品に指向した研究及び開発が盛んに行われている。繊維質食品は、便秘や肥満症を防止し、並びに例えば血栓症、動脈硬化症及び高脂血症のような老人病を防止するのに、好ましい効果を有することが知られている(J. Ame. Clin. Nutr. 48:748-753, 1988; J. Ame. Clin. Nutr. 52:495-499, 1990; J. Ame. Clin. Nutr. 124:78-83, 1994)。

【0004】

繊維質食品の中には、高分子量アルギネート、海藻(例えば、褐海草、コンブ、ホンダワラ類、ヒジキ等)中の細胞壁多糖類を20~30%含む繊維質食品成分は、インピボで、コレステロールレベルを低減し、更に肥満症を抑制する効果を有することが知られている[J. Jap. Nutr. 26(3):78-83, 1974; J. Jap. Nutr. 33(6):273-281, 1974;]

Jap. J. Fisheries 59 (5) : 879-884, 1993]。

【0005】

現在、多くのアルギネートー関連製品が製造され、販売されている。しかし、これらの製品に含まれるほとんどのアルギネートは、海草原材料から簡易な抽出及び加工により製造され、これらは高分子量のアルギネート（約4000000000ダルトン以上）である。高分子量アルギネートは、マンヌロネート（M）とグルロネート（G）モノマーより成るブロックポリマーであり、高分子量形態では高い粘性と低い溶解性を有する。従って、高分子量の形態のものを高濃度で食品（特に飲料）に添加することは簡単ではない。

【0006】

日本国特許公開公報平6-7093号に、低分子量化アルギネートを、機能的飲料へのサプリメントとして使用することが開示されている。

ここで使用される「低分子量化アルギネート」とは、分子量がMw10~900kDaのポリマンヌロネートとポリグルロネートが混合している状態を意味するものである。高分子量アルギネートと比較すると、低分子量化アルギネートは、低い粘性と高い溶解性を有し、コレステロールレベルに対し優れた機能的効果を有することが知られている。

【0007】

高分子量形態から低分子量化アルギネートを製造するのに用いられる従来の方法には、酸-アルカリ加水分解法 [Haug, A., Larsen, B. 及び Smidsrod, O., Acta Chem. Scand., 20 (1) : 183-190, 1966; Hirst, E. 及び Rees, D. A. J. Chem. Soc., 9 : 1182-1187, 1965; Hirst, E. L., Percival, E. 及び Wold, J. K. J. Chem. Soc., 8 : 1493-1499, 1964]、加熱及び加圧下での加水分解 [日本国特許公開公報平6-7093, 1994; キムラ (Kimura, Y.), ワタナベ (Watanabe, K.) 及び オクダ (Okuda, H.), J. Ethnopharmacology 54 : 47-54, 1996]、及び、酵素による加水分解 [Doubet, R. S. 及び Quatrano, R. S., Appl. En

v iron. Microbiol. 47 (4) : 699-703, 1984; Dunne, W. M. 及び Buckmire, F. L. A., Appl. Environ. Microbiol. 50 (1) : 562-567, 1985; Hansen, J. B. 及び ナカムラ (Nakamura), L. K. Appl. Environ. Microbiol. 49 (4) : 1019-1021, 1985; Haug, A. 及び Larsen, B., Carbohydr. Res. 17 : 297-308, 1971; Romeo, T. 及び Preston, J. F., Biochemistry 25 (26) : 8385-8391, 1986; ヨネモト (Yonemoto, Y.), ムラタ (Murata, K.), キムラ (Kimura, A.), ヤマガチ (Yamaguchi, H.) 及び オカヤマ (Okayama, k.), J. of Ferment. 及び Bioengin. 72 (3) : 152-157, 1991] が含まれる。

【0008】

上記酸-アルカリ加水分解法は、工業的スケールにまでスケールアップすることが困難であり、これは、得られる製品の品質が劣化し、反応装置の腐食が起こり、中和試薬が必要であり、強酸の使用に関して面倒なハンドリングが必要だからである。加圧下、100～200℃で加熱することにより分子量10～900 kDaの低分子量化アルギネートを製造する第2の方法も、プロセスを高圧下100℃以上の高温で実施しなければならないため、加水分解するに際し、長い反応時間が必要であり、コストも高くなってしまうという問題点を有していた。

【0009】

上記したように、高分子量アルギネートと比較して、低分子量化アルギネートは、コレステロールレベルを減少させることに関して優れた効果を有し、また、例えば溶解性等のような物理特性も改善されている。従って、低分子量化アルギネートは、健康助剤食品に有用であると考えられる。

【0010】

しかし、低分子量ポリマンヌロネートそれ自体が、コレステロールレベルを低下させるのに直接影響を及ぼす実質的成分であることは知られておらず、また、天然のアルギネートから高純度品質で低分子量ポリマンヌロネートを抽出する方

法も、従来は知られていない。

【0011】

ポリマンヌロネートは、慢性尿毒症患者の有毒成分のレベルを調整する物質として（Kulbeら，米国特許No. 4, 689, 322）、又は移植後の移植細胞若しくは組織を保護する細胞－若しくは組織－被覆物質として（Dorrianら，米国特許No. 5, 656, 468）、知られているのみである。

【0012】

しかし、コレステロールレベルを低減させる直接の効果を有する実質的成分を、天然の海藻から、純粋な形態で識別して抽出することが極めて望ましく、期待されるところも大きい。本発明は、純粋な形態での実質的成分の抽出を可能とし、従って、これ等を食品に添加剤として直接使用することを可能にする。このように、本発明は、高単位（high-unit）で且つ、より正確な量で実質的成分を含有する機能性食品を製造することができることを開示するものである。本発明により得られる有用性は、関連する産業及び関連する健康衛生界に極めて有用である。

【0013】

（発明の要旨）

本発明の目的は、低分子量ポリマンヌロネートを高純度で製造する方法を提供することである。

【0014】

本発明の他の目的は、低分子量ポリマンヌロネートを血清コレステロールレベルを調整するものとして利用することを提供することである。

【0015】

更に本発明の他の目的は、上記低分子量ポリマンヌロネートを含有する健康助剤および機能性食品を提供することである。

本発明の他の目的は、健康なライフスタイルを高めることに貢献し、また、本発明の物質を機能性食品及び健康助剤食品に加えることにより、肥満症、糖尿病及び心臓血管病を予防、処置することに寄与することである。

【0016】

本発明には、高純度で、低分子量のポリマンヌロネートを製造する方法、及び血清脂質を調整するものとしてのこれらの新規な利用が含まれる。さらに本発明には、当該低分子量ポリマンヌロネートを含有する健康助剤及び機能性食品も含まれるものである。

【0017】

本発明の方法は、高分子量のアルギネートから、有機酸を使用することによる分解及びその後のpHに依存する溶解度の差異を利用した分離により、低分子量のポリマンヌロネートのみを精製することに関する。本発明の方法は、高分子量のアルギネートに有機酸を添加する工程、該溶液を加熱する工程、pHを2.5～3.5に調節する工程、及び、得られたポリマンヌロネートを回収する工程を含む。高分子量のアルギネートは、海藻から製造される。好適な有機酸には、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、乳酸、琥珀酸、酒石酸及び酢酸が含まれる。好適なpH範囲は2.8～3.0である。

【0018】

本発明には、肥満症を防ぎ、血清脂質を調整し、肝機能を高め、更に人体から重金属を排出するための組成物であって、0.01～100重量%の低分子量ポリマンヌロネートを含有するものも含まれる。本発明には更に、血清脂質を調整し、高脂血症や肥満症や糖尿病を防ぐことができる機能性食品であって、0.01～100重量%の低分子量ポリマンヌロネートを含有するものも含まれる。かかる機能性食品は、飲料性食品または固形の食料品とすることができる。また、肥満症、糖尿病や、高血圧症、動脈硬化、狭心症、心筋梗塞及び脳血栓症のような心臓血管病を防止し、処置するための健康助剤であって、0.01～100重量%の低分子量ポリマンヌロネートを含有するものも、本発明の範囲に包含される。

【0019】

(発明の詳細な説明)

本発明の方法においては、高分子量のアルギネートを有機酸により部分的に加水分解して、低分子量化アルギネートや、ポリマンヌロネートとポリグルコネートとの混合物を調製し、これからポリマンヌロネートのみをpHに依存させて沈

殿させることにより分離する。

【0020】

本発明の出発物質として使用する高分子量のアルギネートは、天然の褐海藻またはこれらの乾燥粉末サンプルから、公知の方法、すなわち抽出、中和、脱水さらには減圧下での乾燥等によるような適切な調製処理を行うことで得ることができる。

【0021】

本発明に使用することができる有機酸には、クエン酸、リンゴ酸、蔞酸、乳酸、琥珀酸、酒石酸及び酢酸が含まれるが、これらに限定されるものではない。高分子量のアルギネートを低分子量に加水分解することができる有機酸であれば、本発明に使用できる。低分子量化の度合いは、選択する有機酸に依存して異なるが、使用する有機酸の濃度または加水分解時間を調整することにより適合させることができる。本発明の一例として示すように、酢酸は同じ濃度条件下では、種々の有機酸の中で最大の低分子量化を示す。本発明の他の一例において、有機酸の適切な濃度は、0.2モル～2モルであり、好適には0.2モル～1モルである。

【0022】

有機酸を用いた高分子量アルギネートの加水分解は、温度80～120℃、好適には95～105℃で行うことができる。

【0023】

低分子量のポリマンヌロネートを製造する本発明の方法における第二段階として、得られた溶液のpHを2.5～3.5、好ましくは2.8～3.0に調整する。pHが2.5未満の場合には、得られるポリマンヌロネートの純度は高くなるが収率が劣り、一方、pHが3.5を超えると得られるポリマンヌロネートの純度が低くなってしまう。このように得られるポリマンヌロネートの純度と収率との両者を勘案する必要がある、これらのことを考慮すると、上記した範囲のpH範囲が選択される。

【0024】

本発明の方法により得られる低分子量のポリマンヌロネートは、90%を超え

る高純度を有する。ここで用いる「低分子量」のポリマンヌロネートとは、平均分子量が1～100 kDaを有するポリマンヌロネートを意味する。本発明において得られる低分子量のポリマンヌロネートは、好適には30～50 kDaであり、より好適には、35～45 kDaである。

【0025】

本発明の発明者らは、このようにして得られた低分子量のポリマンヌロネートは、高分子量のアルギネート、低分子量化されたアルギネートまたは低分子量のポリグルロネートのような物質よりも、血清脂質レベルを調整するという機能の点から優れているものであることを見出した。ここで用いる「血清脂質レベルを調整」とは、例えば、全体のコレステロールレベルを低下させ、有効な高比重リポタンパク質（HDL）レベルを増加させ、低比重リポタンパク質（LDL）レベルを低下させ、更に血液中及び肝臓中のトリグリセリドやリン脂質のレベルを調整し、並びにGOT及びGPT値を低下させるような種々の機能を含むことを意図するものである。

【0026】

GOT及びGPT値は、それぞれグルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ及びグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼの酵素の活性を測定した結果である。GOT及びGPTの活性は肝臓に対する全てのタイプの疾病において増加し、また、これらの増加はすべての損傷に極めて敏感であるので、GOT及びGPT値を低下させる能力は、肝臓の機能を高めることを意味する。

【0027】

動物実験において、低分子量のポリマンヌロネートは、低分子量化されたアルギネート及び低分子量のポリグルロネートよりも、血清脂質レベルを調整する機能において優れていることが見出された。更に、動物の肝臓は、低分子量のポリマンヌロネートを連続的に続けて投与しても損傷を受けないことが見出された（後述の例3参照）。本発明の低分子量のポリマンヌロネートの新規な機能は、全体のコレステロールレベルを下げるだけでなく、更に、各タイプのコレステロール担体の組成比を有効に調整する。更に、低分子量のポリマンヌロネートは、GOT及びGPT値を低下させることができ、従って、肝臓の機能を高めること

を可能とする。

【0028】

また、本発明者らは、本発明の低分子量のポリマンヌロネートは、例えばCd、Pb、Hgのような有害な多くの重金属と結びついて、体内からこれらを排出することも見出した。ポリマンヌロネートが有害な重金属と結びつく親和性は、高分子量のアルギネートと比較して、はるかに大きいものである。

【0029】

さらに、基本的には、ポリマンヌロネートが水と結びつく能力及び水分を保持する特性は高いので、ポリマンヌロネートが便秘を解消するのに有効であることが期待される。

【0030】

上記したように、本発明から得られた低分子量のポリマンヌロネートは、高純度であり、更に血清脂質レベルを調整することに関する機能を有する。また、水溶性及び粘性のような物理的特性もきわめて良好である。更に、天然の褐藻類の独特のにおいや味を残存させることがない。したがって、血清脂質レベルを好適に調整するために、及び肥満症や糖尿病を防いだり処置したりするために、当該低分子量のポリマンヌロネートを、種々の食品の機能性添加物として、または低分子量ポリマンヌロネート粉末自身で使用することができる。

【0031】

本発明において製造された低分子量のポリマンヌロネートは、慢性尿毒症の患者の有毒性成分のレベルを調整するための物質として、また移植における免疫攻撃から、移植された細胞または組織を保護するための細胞被覆物質または組織被覆物質として使用することもできる。

【0032】

本発明において製造された低分子量のポリマンヌロネートは、種々の健康助剤食品及び/又は機能性食品を製造する際に、主成分として、または添加剤として、またはサプリメントとして使用することができる。

【0033】

ここで用いる「機能性食品」とは、一般の食品の機能性がポリマンヌロネート

の添加により強化された、機能的に強化された特別な食品を意味するものとする。機能性には通常、物理特性及び生理的な機能性が含まれる。本発明のポリマンヌロネートは、物理特性として、特別な粘性及び重金属との結合親和性を有し、生理的な特性として、高脂血症を防ぐ機能（すなわち、コレステロールレベルを低下させることにより得られる結果である）、肝臓の機能を高める機能等の機能を有する。したがって、本発明のポリマンヌロネートを一般の食品の製造中に添加した場合には、かかる一般の食品の物理的及び生理的な機能性が高められる。ここで、用いられる「機能性食品」とは、物理的特性だけではなく、生理的な機能をも機能的に高めた全ての食品が含まれることと規定される。例えば、本発明のポリマンヌロネートは、ハムのような二次加工食品の製造の際に添加されて、当該食品の粘性を高め、及び／又は、高脂血症/肥満症を防止するように機能することができる。このように、本発明のポリマンヌロネートが添加されたかかる二次加工食品は、機能性食品とここで通常称されるものである。

【0034】

上記機能性食品とは別に、「健康助剤食品」または「栄養特別食品」とは、一般の食品にポリマンヌロネートを添加することにより、またはポリマンヌロネートを含む摂取可能な賦形剤のみを製造することにより調製されるヘルスケア食品を意味する。かかるヘルスケア食品は、病気の恐れが高い人や患者により、特定の健康効果を得るために通常求められる。長期間にわたり本発明のものをを用いて処置した場合には、健康助剤食品は、まさに医薬品のような特定の薬理効果を与えるが、普通の医薬品と比較すると、副作用を引き起こすことがなく、これは天然の食品から作られているからである。

【0035】

例えば、本発明のポリマンヌロネートの機能を、食事療法効率、ダイエット効率に利用することで、療養食、ダイエット用の機能性食品を製造することができる。さらに、肝臓機能を高めるために上記機能を利用することで、機能的に強化された食品又は飲料を製造することができる。

【0036】

さらに、本発明のポリマンヌロネートを、高脂血症の患者のコレステロールレ

ベルを低下及び／又は調節するため、または高脂血症を防ぐために、食事療法の一つとして使用することのできる健康助剤食品の製造に適用することができる。

【0037】

他の適用例としては、便秘を防ぐための繊維性食料品飲料、コレステロールを低減させたパン、小麦粉の麺およびマーガリンが含まれる。

【0038】

本発明の低分子量のポリマンヌロネートは、好ましくは、最終的な食品の0.01～100%の割合で最終的な機能性食品又は健康助剤食品に含有される。より好適な割合は、食品の種類に依存し、例えば飲料には約0.01～5%であり、麺には約10～50%であり、健康助剤食品には約40～100%である。

【0039】

低分子量のポリマンヌロネートを含有する麺やパンのような機能性の小麦粉由来の食品は、粉末形態の本発明のポリマンヌロネートと従来の小麦粉とを、低分子量のポリマンヌロネートが1～50%の割合となるようにして混合し、当該混合粉末から最終的な麺及びパンのドーを従来の方法を用いて製造することにより、調製することができる。ここで用いられる「固形の食料品」とは、麺及びパンのような機能性食品を包含するが、これらに限定されるものではない。

【0040】

本発明の低分子量のポリマンヌロネートを主成分としてまたは任意の共通の添加剤として含有するカプセル形状またはタブレット形状のダイエット食品は、既知の従来の製造方法を使用することにより製造することができる。

【0041】

上記した適用例を含み、本発明の低分子量のポリマンヌロネートは、食品業界の種々の分野に、ニーズに応じた独特の粉末形態やまたは溶解溶液の形態で、適用することができる。例えば、通常の飲料に添加して機能性飲料を調製することができ、ハムやソーセージのような高脂質／コレステロール食品に添加してコレステロールレベルを減少させることができ、更に肉類用のシーゾニング又は塩に添加することができる。

【0042】

本発明を次の例により詳細に説明するが、これらに限定されるものではない。

例1

1. 低分子量ポリマンヌロネートの製造

約60gのアルギネート（分子量が約1300kDa）を、下記の表1～6に示すようなそれぞれの濃度で各有機酸600mlと混合した。該混合物を攪拌して、温度約100℃でかつ下記表の各カラムに示された時間で加水分解をおこなった（有機酸の濃度は加水分解時間と逆比例するので、有機酸の濃度が濃くなるほど加水分解時間は短くなる）。低分子量のポリマンヌロネート及び低分子量のポリグルロネートの混合物状態で得られる低分子量化されたアルギネート溶液を、同じ有機酸を添加してpH2.8～3.0に調節し、次いで分離のために遠心分離した（上澄み液区分はポリマンヌロネートで、沈殿物区分はポリグルロネートである）。上層部分を収集し、カルボン酸ナトリウム（1M）の添加により中和し、エタノールを最終濃度の50%まで添加して沈殿物を生成させ、次いで遠心分離して当該沈殿物を得た。

【0043】

得られた沈殿物を最小量の蒸留水（約200ml）に溶解させた。得られる溶液を、同じ有機酸を用いてpH2.8～3.0に調節し、分離のために遠心分離した。上層部分をカルボン酸ナトリウム（1M）の添加により中和し、上記したと同様の容量のエタノールを添加して沈殿物を得、これを遠心分離により分離して、低分子量のポリマンヌロネートを得た。

【0044】

2. 得られたポリマンヌロネートの分子量の測定

得られたポリマンヌロネートの分子量を、セファロース（Sephacrose）CL-4B及びセファロース（Sephacrose）CL-6Bカラムクロマトグラフィー（ ϕ 12mm×97.6cm）を用い、及びプルラン（Pullulan）（シヨーデックス（Shodex）スタンダード（standard）P-82）を基準として用いて測定した。本発明で製造されたポリマンヌロネートの平均分子量は、46.1kDaであった。

【0045】

3. 得られたポリマンヌロネートの純度アッセイ

得られた低分子量のポリマンヌロネートを1%のトリエチルアミン溶液に溶解させた後、得られた低分子量のポリマンヌロネートの純度と組成を、5%のメタノールを含有する0.02モルのリン酸カリウム緩衝液(pH4.6)を用い、ワットマン パーティジル(Whatman Partisil) 10-SAX アニオン交換カラム(250×4.6mm i.d.)を使用してHPLCにより分析した。照準としてグルロネートラクトン及びマンヌロネートラクトン(シグマ社)のクロマトグラムを同じHPLCで分析して、このサンプルの分析結果を各サンプルの各溶離パターンと比較して、純度を決定した。本発明で製造されたポリマンヌロネートの平均純度は、加水分解時間に依存して、1時間で91%、3時間で93%、5時間で96%であった。

【0046】

例2

種々の有機酸による高分子量アルギネートの部分的加水分解

種々の有機酸を用いて、高分子量アルギネートの部分的加水分解を同一の時間で実施して、その結果を下記の表1に示す。使用した有機酸に依存して、低分子量化の進行は異なり、同じ濃度では酢酸を用いることで最大の低分子量化が得られた。これらの収率は、ほぼ80%付近であり、同様のものではあった。

【0047】

【表1】

ポリマンヌロネートの分子量と有機酸との関係

有機酸(0.4M)	加水分解時間(時間)	分子量(kDa)
クエン酸	3	24.0
リンゴ酸	3	53.2
シュウ酸	3	37.6
乳酸	3	33.8
コハク酸	3	35.4
酒石酸	3	33.1
酢酸	3	7.5

※100℃の一定温度で反応を行った。

【0048】

加水分解を酢酸濃度を多様に変えて（0.2～1.0モル）実施した。その結果を下記の表2に示す。表2から明らかなように、アルギネートの低分子量化の度合いは、有機酸の濃度が増大するにつれて増加した。酢酸の場合、0.2モルの低濃度で、40kDaの低分子量のポリマンヌロネートを十分に調製することができる。

【0049】

【表2】

酢酸濃度と得られたポリマンヌロネートとの関係

酢酸濃度(M)	加水分解時間(時間)	分子量(kDa)
0	0	1,283.0
0.2	3	40.0
0.4	3	7.5
0.6	3	3.8
0.8	3	1.9
1.0	3	0.6

※100℃の一定温度で反応を行った。

【0050】

加水分解時間を変化させるが有機酸の濃度は変化させないで、高分子量のアルギネートの部分的加水分解を、酢酸、リンゴ酸、蓚酸及びクエン酸を用いて実施し、その結果をそれぞれ表3～6に示す。低分子量化の度合いは、10分～240分の間で反応時間を長くすることにより増加した。特に、迅速な加水分解（低分子量化）は、反応の開始時（10分～60分）に行われた。

【0051】

【表3】

得られたポリマンヌロネートの分子量と加水分解時間との関係
(酢酸使用)

酢酸濃度(M)	加水分解時間(時間)	分子量(kDa)
0.4	0	1,283.90
	10	462.1
	20	185.6
	40	109.0
	55	43.2
	60	32.8
	120	23.7
	180	7.5
	240	4.4

※100℃の一定温度で反応を行った。

【0052】

【表4】

得られたポリマンヌロネートの分子量と加水分解時間との関係
(リンゴ酸使用)

リンゴ酸濃度(M)	加水分解時間(時間)	分子量(kDa)
0.4	0	1,283.0
	20	569.0
	40	446.1
	60	234.2
	120	123.9
	180	53.2
	240	24.0

※100℃の一定温度で反応を行った。

【0053】

【表5】

得られたポリマンヌロネートの分子量と加水分解時間との関係
(シュウ酸使用)

シュウ酸濃度(M)	加水分解時間(時間)	分子量(kDa)
0.4	0	1,283.0
	20	465.4
	40	354.8
	60	162.8
	120	82.5
	180	37.6
	240	15.4

※100℃の一定温度で反応を行った。

【0054】

【表6】

得られたポリマンヌロネートの分子量と加水分解時間との関係
(クエン酸使用)

クエン酸濃度(M)	加水分解時間(時間)	分子量(kDa)
0.4	0	1,283.0
	20	452.4
	40	332.8
	60	154.0
	120	78.5
	180	24.0
	240	13.2

※100℃の一定温度で反応を行った。

【0055】

例3

低分子量ポリマンヌロネートの効果

1. 物質及び方法

(1) 実験食餌の組成

基本食餌、コレステロール食餌及び実験食餌の組成及び含有量を、下記の表7に示す。コレステロール食餌（照準）は、1%のコレステロールを基本食餌に添加し、同量のサッカロースを基本食餌から取り除くことにより製造した。実験食餌は、1%のコレステロールと、5%の低分子量ポリマンヌロネート（pM）、5%のポリグルロネート（pG）及び2.5%のpMと2.5%のpGとの混合物からなる群より選ばれた1種とを基本食餌に添加し、対応量のサッカロースを基本食餌から取り除くことにより製造した。

【0056】

【表7】

実験食餌の成分 (g/kg)

食品成分	被験動物群				
	基本食餌	照準	PM食餌	pM+pG食餌	pG食餌
カゼイン	180	180	180	180	280
ラッド(Rad)油	80	80	80	80	80
コーン油	20	20	20	20	20
ミネラル	40	40	40	40	40
ビタミン	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5
塩化コリン	2	2	2	2	2
コレステロール	0	10	10	10	10
コリン酸ナトリウム	0	2.5	2.5	2.5	2.5
ポリマンヌロネート	0	0	50	25	0
ポリグルロネート	0	0	0	25	50
砂糖	669.5	657	607	607	607

【0057】

(2) 被験動物

生後4週間の雄のスプレーグダウリー（Sprague Dawley）（SD）ラットを（コリアン エクスペリメンタル アニマル インスティテュート（Korean Experimental Animal Institute）から入手した）、本発明の実験に被験動物として用いた。全部で50匹の動物を上記表7に示すように5つの群に分け、各群に5週間、上記表7に示す組成

の食餌を与えた。

【0058】

被験動物の育成条件は、室温 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ で、湿度 $65 \pm 3\%$ であり、これらは自動的に調整された。5週間にわたり食餌を与えた後、被験動物から血液を採取し、これから血清を分離して、コレステロール、トリグリセリド、リン酸脂質及び低比重リポタンパク質の各レベルの試験を、血清及び肝臓サンプルにおいて実施した。

【0059】

コレステロール、トリグリセリド、リン酸脂質及び低比重リポタンパク質の各レベルの試験に関し、キット試薬（シンーヤング ケミカル(Shin-yang Chemical)社）を使用し、食品銘柄（food grade）食餌を被験動物に与えるのに使用した。

【0060】

（3）全体のコレステロールレベル及び遊離コレステロールレベル

血清及び肝臓抽出サンプル中の全体のコレステロール及び遊離コレステロールの試験に関し、 $100\mu\text{l}$ の血清及び肝臓抽出サンプルをコレステロールC11-テストキットによる試験に、また遊離コレステロールC-テストキット（シンーヤング ケミカル(Shin-yang Chemical)社製）による試験に使用した。

【0061】

（4）トリグリセリド及びリン酸脂質レベル

トリグリセリド及びリン酸脂質の試験に関し、 $100\mu\text{l}$ の血清及び肝臓抽出サンプルを、トリグリセリドG-テストキットによる試験に、またリン酸脂質C-テストキット（シンーヤング ケミカル(Shin-yang Chemical)社製）による試験に使用した。

【0062】

（5）高比重リポタンパク質及び低比重リポタンパク質コレステロールレベル

高比重リポタンパク質コレステロールのレベルを、高比重リポタンパク質コレステロールC-テストキット（シンーヤング ケミカル(Shin-yang Chemical)社製、大韓民国）を用いることにより、 $100\mu\text{l}$ の血清及び肝臓抽出サンプルに

関して試験を実施した。低比重リポタンパク質コレステロールレベルは、全体のコレステロールレベルから高比重リポタンパク質コレステロールのレベルを除くことにより計算した。

【0063】

(6) グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT) 及びグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) の活性

これ等の活性を GOT 及び GPT 活性テストキットを用いて、採取した各 100 μ l の血清サンプルに関して測定した。

【0064】

(7) 統計的評価

上記試験のデータを、各試験群毎に関し、平均及び標準偏差の計算により統計的に実施した。各テスト群の統計的意義を、ダンカン (Duncan) のマルチプルテスト ($p < 0.01$) により評価した。

【0065】

1. 低分子量のポリマンヌロネートの肥満症抑制効果

5つのテスト群の動物における重量増加を検査し、その結果を表8に示す。当該表から、5週間にわたり5%の低分子量のポリマンヌロネートを食餌として与えていたテスト群は、照準の群と比較して、体重増加がかなり有効に抑制されていることがわかる。

【0066】

【表8】

5週間、食餌を与えた後の食餌効率

テスト群	体重増加	食餌摂取量	食餌効率
基本食餌	197.2	429.1	0.46
照準*1	212.6	433.8	0.49
ポリマンヌロネート*2	199.0	446.8	0.44
ポリマンヌロネート +ポリグルロネート*3	201.6	453.4	0.44
ポリグルロネート*4	200.1	442.1	0.45

*1 基本食餌+コレステロール1%を与えたテスト群

*2 基本食餌+コレステロール1%+ポリマンヌロネート5%を与えたテスト群

*3 基本食餌+コレステロール1%+ポリマンヌロネート2.5%+ポリグルロネート2.5%を与えたテスト群

*4 基本食餌+ポリグルロネート5%を与えたテスト群

【0067】

2. コレステロールレベルに関する効果

5つのテスト群の動物に関して検査し、その結果を表9に示す。当該表から、5週間にわたり、5%の低分子量のポリマンヌロネート又は5%のポリグルロネート又は両方を食餌として与えていたテスト群は、照準の群と比較して、コレステロールレベルが有効に低減されていることがわかる。特に、コレステロールレベルの低下の度合いが最も高いのは、本発明の低分子量のポリマンヌロネートを食餌として与えていた群であった。更に、ポリマンヌロネート+ポリグルロネートを混合した食餌を与えていた群における低減効果は、ポリグルロネートのみを与えていた群よりも高かった。これ等の結果から、血清及び肝臓中のコレステロールレベルを低下させる低分子量化されたアルギネート（すなわち、ポリマンヌロネートとポリグルロネートとの混合物）中の実質的な成分は、本発明のポリマンヌロネートであることが予測される。本発明のテストの結果において、本発明の低分子量ポリマンヌロネートの食餌は、照準群のレベルと比較して、血清コレステロールレベルが46%、肝臓コレステロールレベルが59%低減された。

【0068】

【表9】

実験食餌を与えたラットの血清及び肝臓中のコレステロールレベル

テスト群	血清(mg/dl)	肝臓(mg/g)
基本食餌	35.1 ± 1.3	7.4 ± 0.2
照準* ¹	284.2 ± 3.6	35.6 ± 0.3
ポリマンヌロネート* ²	153.3 ± 2.7	14.7 ± 0.2
ポリマンヌロネート +ポリグルロネート* ³	207.5 ± 3.3	19.6 ± 0.2
ポリグルロネート* ⁴	218.8 ± 3.4	22.1 ± 0.3

*1, *2, *3 及び*4 は表8と同じ

【0069】

3. トリグリセリド及びリン酸脂質の効果

5つのテスト群の動物における血清および肝臓中のトリグリセリド及びリン酸脂質のレベルを検査し、その結果を表10及び11にそれぞれ示す。

表10から、血清中のトリグリセリドのレベルは、コレステロール食餌群が最も高く、ポリマンヌロネート食餌群が最も低かった。他の二つの実験食餌群（すなわち、混合食餌及びポリG食餌群）のトリグリセリドのレベルは、基本食餌群のものとほぼ同様であることが示されている。同様に、肝臓抽出物中のレベルは、コレステロール食餌群が最も高く、ポリマンヌロネート食餌群が最も低かった。

【0070】

表11から明らかなように、血清中及び肝臓中の双方におけるリン酸脂質のレベルは、コレステロール食餌群が最も高く、基本食餌群が最も低かった。実験食餌した全ての3つの群におけるリン酸脂質のレベルは、コレステロール食餌群のものよりも低く、特に、ポリマンヌロネート食餌群のものが最も低かった。

【0071】

本発明の低分子量ポリマンヌロネートを投与した結果として、照準群のレベルと比較すると、血清中のトリグリセリド及びリン酸脂質のレベルはそれぞれ42%及び48%減少し、肝臓中のレベルはそれぞれ35%及び40%減少した。

【0072】

【表10】

実験食餌を与えたラットの血清及び肝臓中のトリグリセリドレベル (平均±S. E.)

テスト群	血清 (mg/dl)	肝臓 (mg/g)
基本食餌	62.5 ± 3.4	42.3 ± 1.3
照準* ¹	93.3 ± 4.2	79.2 ± 2.0
ポリマンヌロネート* ²	54.3 ± 2.4	40.8 ± 1.7
ポリマンヌロネート +ポリグルロネート* ³	60.0 ± 2.7	49.2 ± 1.9
ポリグルロネート* ⁴	72.1 ± 2.9	51.9 ± 1.9

*1, *2, *3 及び*4 は表8と同じ

【0073】

【表11】

実験食餌を与えたラットの血清及び肝臓中のリン酸脂質レベル (平均±S. E.)

テスト群	血清 (mg/dl)	肝臓 (mg/g)
基本食餌	48.9 ± 1.5	10.2 ± 0.8
照準* ¹	98.8 ± 3.2	24.5 ± 1.5
ポリマンヌロネート* ²	63.8 ± 2.6	14.8 ± 0.9
ポリマンヌロネート +ポリグルロネート* ³	68.5 ± 2.9	15.7 ± 0.7
ポリグルロネート* ⁴	68.0 ± 3.0	18.6 ± 0.7

*1, *2, *3 及び*4 は表8と同じ

【0074】

4. 高比重リポタンパク質及び低比重リポタンパク質コレステロールの効果

5つの群の動物における血清および肝臓中の高比重リポタンパク質及び低比重リポタンパク質コレステロールのレベルを検査し、その結果を表12及び13にそれぞれ示す。

【0075】

血清中の高比重リポタンパク質のレベルは、コレステロール食餌群が最も低く、ポリマンヌロネート食餌群が最も高く、一方、肝臓中のレベルは基本食餌群が最も低く、ポリマンヌロネート群が最も高かった（表12参照）。

【0076】

血清及び肝臓中の低比重リポタンパク質のレベルは、コレステロール食餌群が最も高く、基本食餌群が最も低かった（表13参照）。コレステロール食餌群（照準）と比較して、ポリM及び/又はポリG食餌で実験食餌した3つの群において、低比重リポタンパク質のレベルはかなり減少し、特に、低分子量ポリマンヌロネート食餌群において著しく減少した。

【0077】

本発明の低分子量ポリマンヌロネート食餌を用いると、照準（コレステロール食）と比較して、高比重リポタンパク質コレステロールの血清中のレベルは、4.5倍増加し、低比重リポタンパク質コレステロールの血清中のレベルは、59%減少した。更に、肝臓中の高比重リポタンパク質コレステロールレベルは1.2倍に増加し、低比重リポタンパク質コレステロールのレベルは47%減少した。

【0078】

【表12】

実験食餌を与えたラットの血清及び肝臓中の HDL-コレステロールレベル
(平均±S.E.)

テスト群	血清中の HDL-コレステロール (mg/dl)	肝臓中の HDL-コレステロール (mg/g)
基本食餌	27.8 ± 1.1	3.3 ± 0.1
照準* ¹	8.6 ± 0.2	5.7 ± 0.3
ポリマンヌロネート* ²	39.4 ± 0.9	6.8 ± 0.2
ポリマンヌロネート +ポリグルロネート* ³	23.5 ± 0.6	5.4 ± 0.4
ポリグルロネート* ⁴	15.2 ± 0.7	4.9 ± 0.3

*1, *2, *3 及び*4 は表8と同じ

【0079】

【表13】

実験食餌を与えたラットの血清及び肝臓中の LDL-コレステロールレベル
(平均±S.E.)

テスト群	血清中の LDL-コレステロール (mg/dl)	肝臓中の LDL-コレステロール (mg/g)
基本食餌	7.3 ± 0.3	4.1 ± 0.3
照準* ¹	275.6 ± 3.4	29.9 ± 0.5
ポリマンヌロネート* ²	113.9 ± 1.4	7.9 ± 0.2
ポリマンヌロネート +ポリグルロネート* ³	184.0 ± 2.4	14.2 ± 0.3
ポリグルロネート* ⁴	203.6 ± 2.9	17.2 ± 0.3

*1, *2, *3 及び*4 は表8と同じ

【0080】

5. 血清 GOT 及び GPT 値に関する低分子量ポリマンヌロネートの効果

5つのテスト群における血清中の GOT 及び GPT の活性を検査し、その結果を表14に示す。表14から明らかなように、GOT 及び GPT 活性を低減させ

る効果は、低分子量ポリマンヌロネート食餌群が最も高く、すなわち、照準と比較して、GOTにおいて38%減少し、GPTにおいて30%減少した。

【0081】

【表14】

実験食餌を与えたラットの血清中のGOT及びGPTの活性(平均±S.E.)

テスト群	GOT(カ/分)	GPT(カ/分)
基本食餌	23.6±1.7	18.5±1.4
照準*1	45.2±2.3	23.4±2.5
ポリマンヌロネート*2	27.8±2.1	16.3±1.5
ポリマンヌロネート +ポリグルロネート*3	31.9±1.8	18.5±1.8
ポリグルロネート*4	33.4±2.0	18.8±1.9

*1,*2,*3及び*4は表8と同じ

【0082】

6. 急性有毒性テスト

4週間齢のICRマウス(80匹の雄)のそれぞれに、本発明の低分子量ポリマンヌロネートを2g/kgの単一投与で、経口投与した。2週間の間、通常の様態、運動性、体重、外観及び自律神経系の症状に関し、投与後、各マウスを1時間ごとに最初の6時間慎重に観察した。経口投与した後の2週間にわたる毎日の観察から、運動性、体重、振戦、反射反応における異常は認められなかった。結果として、LD50は、かかる急性有毒性テストから2000mg/kgより多かった。

【0083】

例4

ポリマンヌロネートの重金属親和性に関するテスト

精製した海藻アルギネート、ポリマンヌロネート及びポリグルロネートを蒸留水に溶解し、これ等の濃度を400μg/mlに調節した。金属塩を蒸留水中に溶解して、濃度が0から50又は100mMの溶液を調製した。本実施例におい

て使用したカチオンは、 Ca^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Hg^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Rb^{1+} 及び Zn^{2+} であった。4容量の海藻アルギネート、ポリマンヌロネート及びポリグルロネート溶液を、1容量の各カチオン溶液にそれぞれ混合した。該混合物を2時間室温で温置して、遠心分離した（20分間、 $1800 \times g$ ）。各上澄み液中のポリマー濃度を、フェノールー硫酸方法（ドウボイス（Dubois）ら、Anal. Chem. 28、350～356、1956）により測定した。沈殿したポリマーの濃度を計算し、その値をカチオンに対するポリマーの相対親和性の測定結果に用いた。表15に結果を示す。

【0084】

【表15】

重金属イオンによるポリマーの沈殿

重金属 イオン	濃度 (nM) *		
	ポリマンヌロネート	ポリグルロネート	アルギネート
Ca	8.0	8.5	17.6
Cd	3.5	3.6	3.6
Co	20.2	9.9	11.5
Cu	3.5	4.6	3.2
Fe	2.7	3.4	2.7
Hg	18.0	77.7	100<
Mg	100<	100<	100<
Mn	37.2	90.2	63.5
Ru	15.5	16.9	24.1
St	15.6	16.6	23.1
Zn	15.2	18.3	14.5
Pb	5.2	5.5	5.3

* ポリマー（ポリマンヌロネート、ポリグルロネート及びアルギン酸）の $400 \mu\text{g}/\text{lm}$ 溶液から50%のポリマーを沈殿させるのに必要な金属イオンの濃度

【0085】

上記表15を参照すると、Fe、Cu、Cd、Pb及びCaに対するポリマン

ヌロネートの親和性は顕著であり、Zn、St、Ru、Hg及びCoに対する親和性は比較的良好であり、一方、Mgに対する親和性は弱い。Mn及びHgに関する親和性が低いことを除いては、ポリグルロネートはポリマンヌロネートと同様の傾向を示した。重金属イオンに対するアルギン酸の親和性は、ポリグルロネート及びポリマンヌロネートのものよりはるかに低かった。

【0086】

上記詳細に説明したように、本発明は優れた効果を有する。本発明の低分子量ポリマンヌロネートの製造方法は、HClや硫酸等のような無機酸を使用する従来法と比べて、強い無機酸の使用により生じる、リアクターを含む機械装置の腐食や、中和に関する後処理等の問題を取り除くことができる点で優れている。本発明の方法は更に、酵素又は高圧/高温を使用する従来の方と比べて、加水分解時間及びコストの点で優れている。

【0087】

本発明の方法において、高純度（90%又はそれ以上）のポリマンヌロネートであって、所望する程度に徐々に低分子量化させたものを製造することができる。

【0088】

本発明の方法により製造された低分子量化ポリマンヌロネートは、高純度でかつ溶解性が高い単一の物質であり、コレステロールを低減させる効果等の優れた機能的効果を有しており、天然アルギネートの有効成分であり、天然アルギネートの特定の匂いや味を残存させることがないものである。よって、機能性食品や健康助剤食品の製造に添加剤として用いた場合、食品の機能性をよりの確に調整することができ、所望する機能的効果を少量で得ることができる。従って、機能性食品や健康助剤の製造には極めて適した物質である。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/KR01/00130
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC7 A23L 1/29, C08B 37/04, C07H 1/08, A61K 35/00, A23L 1/325 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC7 A23L 1/29, C08B 37/04, C07H 1/08, A61K 35/00, A23L 1/325 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 96/37519 A (FIDIA ADVANCED BIOPOLYMERS S.R.L.) 28 November 1996 see the whole document	1-9
A	US 3948881 A (UNIROYAL, LTD.) 6 April 1976 see the whole document	1-4
A	JP 63-233797 A (NICHIDEN KAGAKU) 29 September 1988 see claim 2	1-4
A	JP 6-172375 A (KIBUN FOODS INC.) 21 June 1994 see the whole document	1-4
A	JP 55-131360 A (KIBUN FOODS INC.) 13 October 1980 see claims 3-5	5-9
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority (claims) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified) "U" documents referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" documents published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "E" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 16 MAY 2001 (16.05.2001)		Date of mailing of the international search report 16 MAY 2001 (16.05.2001)
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, Dunsan-dong, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer SEO, Eui Soo Telephone No. 82-42-481-5632

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/KR01/00139

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 96/37519 A	23-11-92	IT 95580101 A AU 6001296 A	22-11-95 22-5-95
US 3948881 A	06-04-76	CA 1019326 A ES 439473 A NO 140719 B DK 321075 A ES 439475 A JP 51019890 A FR 2278706 A DE 2529086 B GB 1514223 A FR 2278706 A	18-10-77 16-02-77 19-01-76 17-01-76 01-02-77 17-02-76 13-02-76 21-08-80 14-06-78 09-12-77
JP 63-233797 A	29-09-88	NONE	
JP 06-172375 A	21-06-94	NONE	
JP 55-131360 A	13-10-80	NONE	

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	キーワード(参考)
A 6 1 P	3/04	A 6 1 P	3/04
	3/06		3/06
	3/10		3/10
	9/00		9/00
	9/10		9/10
	1 0 1		1 0 1
	1 0 3		1 0 3
	9/12	9/12	
(81)指定国	EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, I T, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, G M, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, B Z, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, J P, KE, KG, KP, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, R U, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW		
(72)発明者	リ ジン ウ 大韓民国 604-051 プサンクァンヨクシ サハグ タデ1ドン 1552 デウアパー ト 103-503		
(72)発明者	リ ドン ス 大韓民国 429-450 キョンギド シフン シ ジョンワンドン 1868 ジュゴンアバ ート 201-105		
(72)発明者	ナム テック ジョン 大韓民国 608-041 プサンクァンヨクシ ナムグムンヒョン1ドン 53-3 (17 /1)		
Fターム(参考)	4B018 LB01 LB02 LB08 LB10 MD27 MD67 ME01 ME04 ME11 MF10 4C086 AA01 AA02 AA04 EA25 MA01 MA04 MA52 NA14 ZA36 ZA40 ZA42 ZA45 ZA70 ZC21 ZC33 ZC35 4C090 AA04 AA09 BA01 BD06 BD08 CA31 DA23 DA27		